

University of Groningen

## Molecular genetic studies in epithelial cells of lung cancer and COPD patients

Boelens, Mirjam Catharina

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2008

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Boelens, M. C. (2008). *Molecular genetic studies in epithelial cells of lung cancer and COPD patients*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

NEDERLANDSE  
SAMENVATTING VOOR  
NIET-INGEWIJDEN

8

CHAPTER

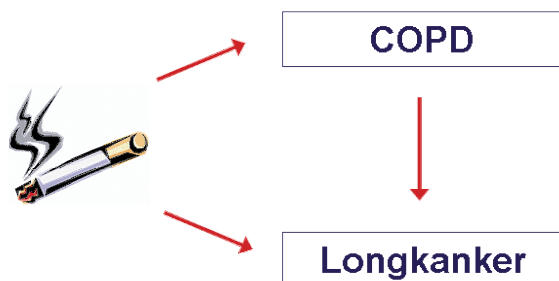


## Inleiding

In 2006 rookte 28% van de Nederlandse bevolking gemiddeld 15 sigaretten per dag. Jaarlijks overlijden circa 20.000 mensen in Nederland aan ziekten die veroorzaakt worden door roken, waaronder hart- en vaatziekten en longziekten zoals longkanker en chronisch obstructieve luchtwegaandoening (COPD). Meer dan 90% van de patiënten die aan longkanker of COPD lijden heeft jarenlang gerookt. Roken is een belangrijke risicofactor voor het krijgen van longkanker en/of COPD (Figuur 1). Daarnaast hebben rokers die COPD hebben een 2 tot 10 maal grotere kans om longkanker te krijgen in vergelijking met ‘gezonde’ rokers. Het is nog grotendeels onbekend waarom COPD-patiënten een verhoogd risico hebben op longkanker.

Longkanker kan worden onderverdeeld in 2 hoofdgroepen; de zgn. kleincellige longkanker (SCLC; small cell lung cancer) en de niet-kleincellige longkanker (NSCLC; non-small cell lung cancer). NSCLC kan vervolgens worden onderverdeeld in een aantal specifieke subtypes waaronder plaveiselcelcarcinoom (SCC; squamous cell carcinoma) en adenocarcinoom (AC; adenocarcinoma). Elke (sub)type longkanker gedraagt zich anders en moet daarom anders behandeld worden. Longkanker is één van de kankersoorten met wereldwijd de hoogste sterftcijfers. Jaarlijks overlijden er alleen al in Nederland circa 9.000 mensen aan de gevolgen van longkanker. Een belangrijke reden van dit hoge sterftcijfer is dat longkanker over het algemeen in een laat stadium wordt ontdekt. De tumor is dan vaak al uitgezaaid en daardoor moeilijk te behandelen.

COPD is een verzamelnaam voor chronische bronchitis en longemfyseem en wordt gekenmerkt door luchtwegobstructie en chronische benauwdheid. COPD staat in de volksmond ook wel bekend als ‘rek uit de long’. Stoppen met roken kan de achteruitgang van de longen afremmen en het gebruik van medicijnen kan de klachten verminderen, maar in principe is COPD een ongeneeslijke ziekte. Jaarlijks overlijden er circa 5.500 Nederlanders aan de gevolgen van COPD.



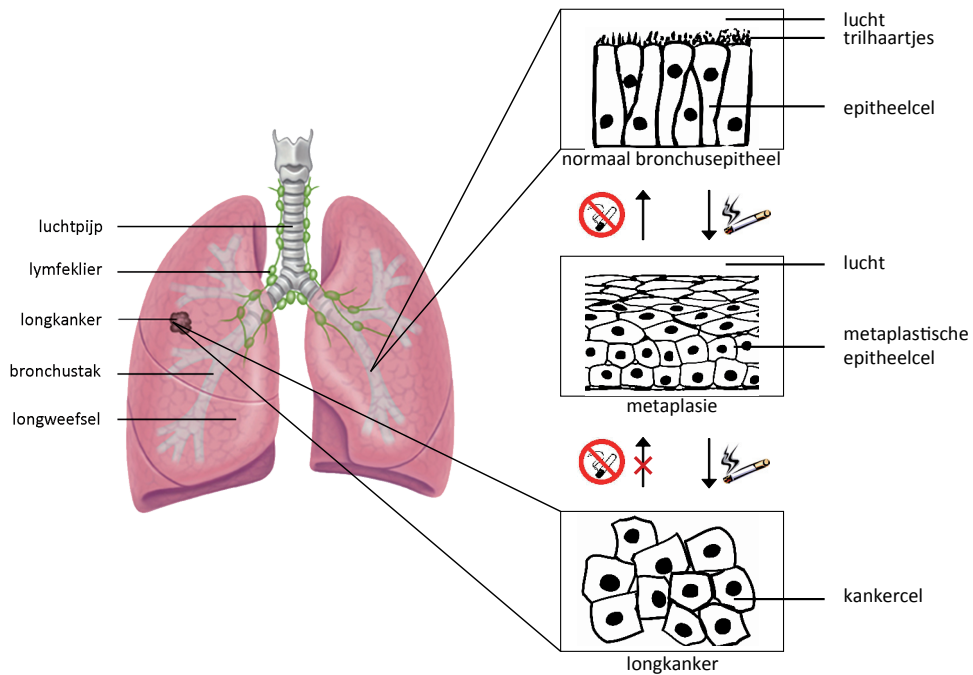
**Figuur 1.** Roken is een risicofactor voor het ontwikkelen van COPD en longkanker. Daarnaast is COPD, onafhankelijk van het roken, een risicofactor voor het ontwikkelen van longkanker.

## Het promotieonderzoek

Het doel van dit promotieonderzoek was om te achterhalen welke genen en welke chromosomen een rol spelen in de ontwikkeling en het gedrag van de SCC variant van longkanker en de ontwikkeling van COPD. Daarnaast wilden we onderzoeken of er een genetische relatie bestaat tussen COPD en longkanker. Als we dit namelijk kunnen begrijpen is het misschien mogelijk om COPD-patiënten preventief te screenen of te behandelen voor longkanker.

Voor dit promotieonderzoek hebben we als controle gebruik gemaakt van de normale bronchus epitheelcellen die de luchtweg bekleden (Figuur 2). Deze cellen komen als eerste in aanraking met sigarettenrook en kunnen met behulp van slijmvorming en de trilhaarbeweging ervoor zorgen dat de neergeslagen rookdeeltjes weer uit de long worden verwijderd. Op een gegeven moment zijn deze epitheelcellen niet meer opgewassen tegen de giftige rookbestanddelen waardoor sommige epitheelcellen ontregeld raken en veranderen via verschillende tussenstadia (hyperplasie, metaplasie en dysplasie) in kwaadaardige cellen. Het metaplasie stadium is nog omkeerbaar wanneer je stopt met roken. Deze metaplastische epitheelcellen kunnen zich dan nog herstellen tot normale epitheelcellen. Het dysplasie stadium is op den duur onomkeerbaar en kan uiteindelijk leiden tot longkanker.

Om onderzoek te kunnen doen specifiek in de epitheelcellen en de kankercellen van de longen van patiënten hebben we een speciale techniek gebruikt, namelijk 'laser dissectie microscopie'. Met deze techniek kun je de cellen waarin je geïnteresseerd bent isoleren uit weefselcoupes van longbiopten. Uit deze cellen hebben we het genetische materiaal gehaald. Met behulp van de zogenaamde 'microarray' techniek kunnen we een genetisch profiel maken van alle genproducten (RNA-profiel) en alle chromosomen (DNA-profiel). Laser dissectie microscopie en microarray zijn vrij recent ontwikkelde technieken die erg duur en arbeidsintensief zijn. Daarom is eerst onderzocht of deze technieken toegepast en geoptimaliseerd konden worden voor dit onderzoek. Deze resultaten zijn beschreven in de **hoofdstukken 2 en 3**. Met behulp van deze geoptimaliseerde technieken hebben we voor het vervolgonderzoek een groep patiënten geselecteerd die COPD en/of longkanker hadden en vervolgens om therapeutische of diagnostische redenen geopereerd zijn aan hun longen. Van het beschikbare restant aan longweefsel hebben we het genetische materiaal uit de epitheelcellen en de kankercellen geïsoleerd met behulp van laser dissectie microscopie. We hebben vervolgens de genetische profielen geïdentificeerd van deze epitheelcellen en kankercellen en daarna de associatie onderzocht met roken (**hoofdstuk 4**), met COPD (**hoofdstuk 5**), en met het uitzaaiingsgedrag van longkanker (**hoofdstuk 6**).



**Figuur 2.** Links staat een model van de anatomische bouw van de long. Rechts staat een uitvergroting van de epitheelcellen uit de luchtweg (bronchustak) (boven) en uit de tumor (onder). Door roken kunnen normale bronchus epitheelcellen (boven) metaplastisch worden (midden). Dit metaplasie stadium is een stadium dat ook vaak bij COPD-patiënten wordt aangetroffen. De metaplastische cellen kunnen zich nog herstellen als gestopt wordt met roken. Als het roken wordt voortgezet, kunnen de metaplastische cellen overgaan in ernstige dysplastische cellen. Deze dysplastische cellen kunnen zich niet meer herstellen waarna er uiteindelijk longkanker kan ontstaan (onder). Deze kankercellen kunnen de beschadigingen als gevolg van sigarettenrook niet meer ongedaan maken.

## Roken en longkanker

Om meer inzicht te krijgen in de veranderingen die het roken van sigaretten teweeg brengt in epitheelcellen en in kankercellen, hebben we in **hoofdstuk 4** de RNA-profielen in deze cellen vergeleken tussen huidige rokers en ex-rokers. In de kankercellen zagen we geen veranderingen in hoeveelheid RNA tussen huidige rokers en ex-rokers. Blijkbaar heeft het al dan niet roken geen effect meer op het RNA-profiel van de kankercellen. In de gezonde epitheelcellen zagen we voor 246 genen een verschil in hoeveelheid RNA tussen huidige rokers en ex-rokers. Ondanks dat de epitheelcellen van de huidige rokers er gezond uitzagen betekent dit dat deze cellen wel allerlei genetische veranderingen hebben ondergaan. De genen waarvan een verhoogde hoeveelheid RNA aanwezig was in epitheelcellen van huidige rokers zijn voornamelijk de zogenaamde 'oxidatieve stress respons genen'. Deze genen reageren op de veranderingen in de cel die veroorzaakt wordt door de giftige rookdeeltjes.

De genen waarvan een verminderde hoeveelheid RNA aanwezig was in de epitheelcellen van huidige rokers zijn voornamelijk de zogenaamde ‘tumor suppressie genen’. Deze genen spelen een rol bij het in toom houden van de celgroei. Een vermindering van de hoeveelheid RNA van deze genen zou er logischerwijs voor kunnen zorgen dat de celdeling niet goed meer onder controle wordt gehouden. Hierdoor kan de cel ongeremd gaan groeien, wat uiteindelijk kan leiden tot het ontstaan van kanker.

Toen we dezelfde 246 genen - oorspronkelijk afkomstig uit de vergelijking van epitheelcellen van huidige en ex-rokers - onderzochten in de kankercellen, zagen we een duidelijke relatie tussen de hoeveelheid RNA van deze 246 genen van huidige rokers in epitheelcellen en de hoeveelheid RNA in kankercellen. Namelijk voor de genen waarvan een verminderde hoeveelheid RNA aanwezig was in de epitheelcellen van huidige rokers, vonden we een nog verder verlaagde hoeveelheid RNA in de kankercellen. Op basis van deze resultaten lijkt het waarschijnlijk dat deze genen een rol spelen in de door rook veroorzaakte ontwikkeling van longkanker. Er is meer onderzoek nodig naar de functie van deze genen zodat we beter kunnen begrijpen hoe longkanker ontstaat.

## COPD en longkanker

Het doel in **hoofdstuk 5** was om genetisch bewijs te vinden waarom COPD-patiënten een verhoogd risico (2 tot 10 maal) hebben op het krijgen van longkanker. Toen we de RNA-profielen van epitheelcellen van patiënten met en zonder COPD vergeleken, zagen we geen verschillen. Het kan zijn dat we te weinig longbiopten hebben onderzocht om een mogelijk klein verschil hard te kunnen maken. Een vergelijking het RNA-profiel van kankercellen tussen patiënten met en zonder COPD leverde echter voor 374 genen wel een significant verschil op. Uit verder onderzoek bleek dat 44 van deze genen geassocieerd zijn met de zogenaamde ‘mitochondriën’ in de cel. Deze celorganellen verzorgen o.a. de energiehuishouding van een cel. Daarnaast zagen we dat er 34 genen waren die vlak bij elkaar liggen op één van de chromosomen, namelijk op een deel van chromosoom 5.

Het hebben van COPD blijkt dus geen effect te hebben op het genetische profiel van de epitheelcellen, maar wel op het genetische profiel van de kankercellen. Er is aanvullend onderzoek nodig om te doorgronden op welk moment in de ontwikkeling van longkanker COPD-geassocieerde genen een rol gaan spelen. Daarnaast is het belangrijk om te onderzoeken wat de functie is van deze genen zodat beter wordt begrepen waarom COPD-patiënten een verhoogd risico hebben op het krijgen van longkanker. Als we dit weten kunnen we misschien COPD-patiënten preventief screenen of behandelen.

## Longkanker en uitzaaiingen

Een normale cel heeft van elk chromosoom 2 kopieën (één van de vader en één van de moeder). In een kankercel is de celdeling samen met vele andere processen ontregeld, wat o.a. kan leiden tot een toename of juist een afname van het aantal kopieën van (delen van) chromosomen. In **hoofdstuk 6** zijn de chromosomale veranderingen beschreven in kankercellen en in het bijzonder de veranderingen die verband houden met het wel of niet uitzaaien van longkanker. Om dit te kunnen onderzoeken hebben we het genetische profiel vergeleken tussen de kankercellen van longkankerpatiënten die wel of geen uitzaaiingen hebben gekregen. Bepaalde chromosomale veranderingen bleken significant vaker voor te komen in de kankercellen van patiënten die lymfklieruitzaaiingen hadden. Andere chromosomale veranderingen kwamen vaker voor in de kankercellen van patiënten die kort na de diagnose (binnen 2 jaar) uitzaaiingen in andere organen ontwikkelden zoals in de botten, hersenen of lever. Op deze chromosomen zouden belangrijke genen kunnen liggen die een rol spelen in het uitzaaiingsgedrag van longkanker.

## Het vervolg

Samenvattend beschrijft dit proefschrift nieuw ontdekte en veelbelovende genen in longkanker die gerelateerd zijn aan roken en COPD. Daarnaast beschrijft het specifieke chromosomale gebieden die verband houden met het uitzaaien van longkanker. De resultaten van dit onderzoek vormt een goede basis voor vervolgonderzoek. Hierbij valt te denken aan het onderzoeken van de functie van de rook-gerelateerde en COPD-gerelateerde genen in de ontwikkeling van een epitheelcel tot een kankercel. Verder kan het in de toekomst combineren van chromosomale veranderingen en veranderingen in het RNA nieuwe inzichten geven in het uitzaaiingsgedrag van longkanker.



